

酢酸トレンボロン試験法

α -トレンボロン及び β -トレンボロンを分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本産業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

シリカゲルミニカラム (500mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、シリカゲル500mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

トリエチルアミン トリエチルアミン (特級)

2-フルオロ-1-メチルピリジニウム *p*-トルエンスルホン酸塩 純度98%以上の試薬を用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

α -トレンボロン標準品 本品は α -トレンボロン95%以上を含む。

β -トレンボロン標準品 本品は β -トレンボロン95%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

試料10.0gに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル50mL及び*n*-ヘキサン50mLを加えてホモジナイズした後、無水硫酸ナトリウム20gを加えて更にホモジナイズする。毎分3,000回転で5分間遠心分離した後、*n*-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル50mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100mLとする。この溶液から正確に10mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水20mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:4)20mLずつで2回振とう抽出する。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン混液層を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:4)2mLを加えて溶かす。

b 精製法

シリカゲルミニカラム(500mg)に酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:4)5mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:4)10mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混

液（1：1）10mLを注入し、溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

c 誘導体化

b 精製法で得られた残留物に、20mg/mL 2-フルオロ-1-メチルピリジニウム *p*-トルエン
スルホン酸塩・アセトニトリル溶液 1 mL、アセトニトリル及びトリエチルアミンの混液（9：1）
0.05mLを加えてかくはんした後、室温で90分間放置する。誘導体化反応後の溶液を40℃以下で濃
縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液
（3：1）に溶かし、正確に1mLとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

α -トレンボロン標準品及び β -トレンボロン標準品をそれぞれアセトニトリルに溶かして標準
原液を調製する。各標準原液を適宜混合し、アセトニトリルで希釈した溶液を調製する。この溶液か
ら適量を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に20mg/mL 2-フルオロ-1-
メチルピリジニウム *p*-トルエンスルホン酸塩・アセトニトリル溶液 1 mL、アセトニトリル及びト
リエチルアミンの混液（9：1）0.05mLを加えてかくはんした後、室温で90分間放置する。誘導体
化反応後の溶液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ
酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）に溶かし、更に0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセト
ニトリル溶液の混液（3：1）で希釈した溶液を数点調製する。それぞれ液体クロマトグラフ・タン
デム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の
調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中 0.001mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は
0.001mg/Lである。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成により α -ト
レンボロン及び β -トレンボロンの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 測定条件

(例)

カラム：アダマンチル基化学結合型シリカゲル 内径 2.1mm、長さ 150mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（3：1）で5分間保持し
た後、（3：1）から（11：9）までの濃度勾配を5分間で行う。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジティブイオンモード

主なイオン（*m/z*）：

α -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 プリカーサーイオン 362、プロダク
トイオン 253、197

β -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 プリカーサーイオン 362、プロダク
トイオン 253、197

注入量：5 μ L

保持時間の目安：

α -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 8分

β -トレンボロン-1-メチルピリジニウム誘導体化物 9分